ราตรี มูระวงษ์: การศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก สถานะไพรม์เป็นสถานะนาอีฟ ด้วยน้ำยาที่ผลิตจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่มนุษย์ และเซลล์ไฟโบรบาสต์ของตัวอ่อนหนูเมาส์ (A COMPARATIVE STUDY OF CONDITIONED MEDIUM DERIVED FROM HUMAN WHARTON'S JELLY MESENCHYMAL STEM CELLS AND MOUSE EMBRYONIC FIBROBLASTS FOR CONVERTING PRIMED TO NAÏVE STATE OF RHESUS MONKEY EMBRYONIC STEM CELLS)
อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย, 47 หน้า.

คำสำคัญ: ลิงวอก/เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน/น้ำยาเหนี่ยวนำ/สถานะนาอีฟ/สถานะไพรม์

เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก มีบทบาทสำคัญในการสร้างแบบจำลองในสัตว์ทางสาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยเฉพาะการสร้างเนื้อเยื่อใหม่และการรักษาความผิดปกติทางพันธุกรรม ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดชนิดนี้แสดงสถานะไพรม์เท่านั้น ดังนั้นจึงมีข้อจำกัดของการเข้าไปเป็นส่วนหนึ่งในตัวอ่อน และทำให้มีข้อด้อยที่สำคัญต่อการวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งการประสบความสำเร็จในการรีโปรแกรมเซลล์สถานะไพรม์ให้เป็นสถานะนาอีฟถือเป็นจุดเปลี่ยนในการวิจัยด้านเซลล์ต้นกำเนิด เนื่องจากเซลล์สถานะนาอีฟมีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ประเภทใดก็ได้ การศึกษาครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาประสิทธิภาพระบบน้ำยาเลี้ยงเซลล์ในการเปลี่ยนแปลงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกจากสถานะไพรม์ให้เป็นสถานะนาอีฟในสภาวะการเลี้ยงเซลล์ที่ปราศจากเซลล์พี่เลี้ยง โดยใช้ระบบน้ำยาเลี้ยงสองชนิด ได้แก่ น้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจากเซลล์ไฟโบรบาสต์ของตัวอ่อนหนูเมาส์สายพันธุ์ OF1 (OF1-MEFs-CM) และน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายสะดือมนุษย์ (hWJ-MSCs-CM) ผลการวิจัยพบว่าการเปลี่ยนแปลงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก ในน้ำยาทั้งสองชนิดแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มระดับการแสดงออกของยีนพลูริโพเทนต์ ได้แก่ *SOX2* และยังมีการสูญเสียการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับสถานะไพรม์ ได้แก่ *TBXT* และ *OTX2* ในการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่จำเพาะต่อเซลล์สถานะนาอีฟ พบว่าในวันที่ 9 ของการเปลี่ยนแปลงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจาก hWJ-MSCs-CM มีระดับการแสดงออกของยีนที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ได้แก่ *KLF4, KLF17, ESRRB, TFAP2C, DPPA2* และ *DPPA5* ในทางตรงกันข้าม การเปลี่ยนแปลงสถานะเซลล์โดยใช้น้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจาก OF1-MEFs-CM มีระดับการแสดงออกของยีน *DPPA5* ที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเหนี่ยวนำในน้ำยา hWJ-MSCs-CM ในวันที่ 9 และวันที่ 21 ผลการทดลองนี้บ่งชี้ได้ว่าน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจาก hWJ-MSCs-CM มีประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกระยะไพรม์เป็นระยะนาอีฟได้ดี ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเหนี่ยวนำเซลล์พลูริโพเทนต์ชนิดอื่น

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2566

ลายมือชื่อนักศึกษา ราตรี มูระวงษ์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

RATREE MOORAWONG: A COMPARATIVE STUDY OF CONDITIONED MEDIUM DERIVED FROM HUMAN WHARTON'S JELLY MESENCHYMAL STEM CELLS AND MOUSE EMBRYONIC FIBROBLASTS FOR CONVERTING PRIMED TO NAÏVE STATE OF RHESUS MONKEY EMBRYONIC STEM CELLS.
THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. RANGSUN PARNPAI, M.Sc., 47 PP.

Keyword: Rhesus Monkey/Embryonic Stem Cells/Conditioned Medium/Primed State/ NAÏVE State

Rhesus monkey embryonic stem cells (rhESCs) have a significant role used as animal model in medical sciences, especially, tissue regeneration and treatment of genetic disorders. In general, rhESCs are only at the primed state, thus posing limitations on engraftment in host embryos which is significant disadvantages for medical research. The successful reprogramming of primed state cells into the naïve state is considered a breakthrough in stem cell research, as naïve cells have the ability to differentiate into any cell types. The aim of this study was to evaluate the ability of culture media to convert primed rhESCs to a naïve state using two different conditioned media under feeder-free conditions. The first conditioned medium was derived from mouse embryonic fibroblasts of OF1 strain (OF1-MEFs-CM) and the second from human umbilical cord Wharton's jelly mesenchymal stem cells (hWJ-MSCs-CM). The results revealed that the conversion of rhESCs in both conditioned media strongly expressed gene of the core pluripotent markers *SOX2*, while resulting in the loss of genes expression of primed markers including *TBXT* and *OTX2*. The comparison of genes expression of naïve markers found that rhESCs grow in hWJ-MSCs-CM conversion at day 9 exhibited significantly higher levels of gene expression including *KLF4, KLF17, ESRRB, TFAP2C, DPPA2* and *DPPA5*. Conversely, the conversion using rhESCs grow in OF1-MEFs-CM exhibited significantly higher expression of *DPPA5* compared to cells grow in hWJ-MSCs-CM on both day 9 and day 21. These results suggest that the efficiency of each conditioned medium differs in the expression of naïve markers at different stages. The results of this experiment indicate that the hWJ-MSCs-CM efficiently reprograms primed rhESCs into the naïve state. This could be beneficial for application in reprogramming other types of pluripotent stem cells.

School of Biotechnology
Academic Year 2023

Student's Signature Ratree Moorawong
Advisor's Signature